



TITLE:

Direct evidence for the age-dependent
demise of GNAS-mutated cells in oral fibrous
dysplasia(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Isobe, Yuu

CITATION:

Isobe, Yuu. Direct evidence for the age-dependent demise of GNAS-mutated cells in oral fibrous dysplasia. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21618>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	磯部 悠
論文題目	Direct evidence for the age-dependent demise of GNAS-mutated cells in oral fibrous dysplasia （顎顔面領域に発症した線維性異形成症における加齢に伴う GNAS 変異細胞の減少）		
（論文内容の要旨）			
<p>線維性異形成症（Fibrous dysplasia：FD）は未熟な化生骨形成を伴った線維性結合組織が骨組織と置換して増生する良性の骨性病変である。主に GNAS 遺伝子（guanine nucleotide-binding protein, alpha stimulating activity polypeptide 1）の 201 番目のアルギニンのミスセンス変異に起因する。GNAS 遺伝子変異は体細胞変異であり、FD 病変部では GNAS 遺伝子変異細胞と正常細胞とがモザイク状態で存在している。FD は学童期から思春期の若年層に多く発症する。FD 病変の進行は、加齢に伴いアポトーシスにより変異細胞が減少することで線維性骨の増生も減少し、病変の成長が停止すると報告されている。そこで、本研究は FD 病変の成長の違いを検証することによって、加齢に伴う変異細胞の消失により FD 病変内の活動性が低下するという仮説を立てた。5 人の FD 患者の病変内を検証した。5 人の FD 患者の中には病変の進行が継続し、27 年間に 11 回の骨減量手術を受け、活動性の病変と非活動性の病変が混在した患者が含まれていた。</p> <p>骨減量術を施行した 5 人の FD 患者の術中切除骨組織を試料とした。DNA の抽出方法として直接 DNA を抽出した方法と細胞培養後に DNA を抽出した方法の 2 通りで行った。GNAS 遺伝子の 201 番目のアルギニンの遺伝子変異を同定し、変異細胞の割合を算出した。</p> <p>5 人の中 3 人は術中切除骨組織あるいは細胞培養後の変異細胞の割合は若年層であっても比較的低頻度であり、過去の論文と同様の結果が得られた。</p> <p>病変の進行が継続している患者の画像所見において FD 病変部は右側下顎臼歯部後方部から両側下顎前歯部へと近位方向に拡大し病変の進行を認めた。</p> <p>患者の病変部の骨形成能を評価した。抗 alkaline phosphatase（ALP）抗体、抗 bone morphogenetic protein-2（BMP-2）抗体を用いて免疫組織化学的染色で検討した。右側下顎臼歯部後方部の病変部の線維芽細胞、骨芽細胞、骨細胞において ALP、BMP-2 の両方に著明な陽性反応が認められた。一方、両側下顎前歯部の病変部の線維芽細胞においてのみ ALP、BMP-2 の陽性反応を認め、染色領域が異なった。BMP-2 陰性の場合、FD 病変は活動性になる傾向があると報告されている。右側下顎臼歯部後方部の病変部は古く非活動性病変で、両側下顎前歯部の病変部は新しく活動性病変であることが示唆された。</p> <p>術中切除骨組織の変異細胞の割合は、それぞれ 0%、2%および 45%であり、病変の進行が継続している患者の術中切除骨組織内の変異細胞の割合は、部位によって異なった。変異細胞の割合が低い右側下顎臼歯部後方部の病変部は古い病変に相当し、対照的に変異細胞の割合が高い両側下顎前歯部の病変部は、新しい病変に相当した。</p> <p>以上より、症例ごとの変異細胞の割合は異なり、同一患者でも病変部によって変異細胞の割合が異なることを示した。また、活動性の病変と非活動性の病変が混在した特徴的な患者の病変部を検証することにより、加齢に伴う GNAS</p>			

変異細胞の減少・消失が示唆された。FD 病変内では加齢に伴い変異細胞が減少・消失したために変異細胞の割合が低くなり、FD 病変内は活動性が低下するという直接的な証拠を明らかにした。			
（論文審査の結果の要旨）			
線維性異形成症は未熟な化生骨形成を伴った線維性結合組織が骨組織と置換して増生する良性の骨性病変である。今回、申請者は加齢に伴う変異細胞の減少により線維性異形成症の病変内の活動性が低下するという仮説を立て、線維性異形成症と診断された 5 症例の病変部を検証した。その症例の中に古い病変と新しい病変を同時期に認めた稀な症例が含まれていたことから今回の研究手法に着想した。免疫組織化学的染色にて、病変部の骨形成能を検討した。新しい病変部において、抗 BMP-2 抗体の発現の低下を認め、病変部の骨分化の抑制と変異細胞増殖の促進により、活動性が高くなった可能性が示唆された。ダイレクトシーケンス法とサブクローニング法にて、GNAS 遺伝子の 201 番目のアルギニンの遺伝子変異を同定し、病変部の総細胞数に対する変異細胞の割合を算出した。その結果一症例において、古い活動性の低い病変部は変異細胞の割合は低く、対照的に、新しい活動性の高い病変部は変異細胞の割合が高かった。つまり、新しい活動性の高い病変と古い活動性の低い病変を同時期に認めた症例を検証することにより、古い活動性の低い病変ほど加齢に伴う変異細胞の割合が低くなることが示唆された。			
以上より変異細胞の減少により、線維性異形成症の病変部の活動性が低下するということを示した。			
本研究は線維性異形成症の病態の解明に貢献し、今後、新しい治療薬の探索、研究開発に寄与する可能性がある。			
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。			
なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 10 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			